

Inhibición de actividades fisiológicas de microorganismos de suelo ocasionadas por el contacto con suavizantes de telas

David Martínez-Gil¹, Rosa Salgado-Brito¹, Gabriel Pineda-Flores^{2*}

¹Universidad Simón Bolívar

²Centro Mexicano para la Producción Más Limpia-IPN

*Becario COFAA y EDI

Resumen

El objetivo principal del trabajo fue determinar el efecto tóxico de cuatro suavizantes comercializados en México, sobre el crecimiento y actividad de respiración de bacterias mesofílicas aerobias (BMA) y hongos filamentosos (HF) presentes en una muestra de suelo que no presenta influencia alguna de descargas de agua residual. Se demostró que el suavizante denominado ST-2 desarrolló una disminución del crecimiento de las BMA del suelo, pero no afectó el crecimiento de los HF. Al evaluar la producción de CO₂, se determinó una clara inhibición de la actividad respiratoria de los microorganismos presentes.

Palabras clave: Suavizantes de telas, toxicidad, microorganismos.

Abstract

The principal aim of this work was to determine the toxic effect on the growth and carbon dioxide production of mesophilic aerobic bacteria (MAB) and fungi of agriculture soil of soil that received fabric softeners without treatment. The four fabric softener evaluated inhibits the MAB growth. The fabric softener identified as ST-2, produce a drastic bacterial growth reduction. The inhibition of the microbial soil carbon dioxide was observed, when the ST-2 was applied.

Keywords: Fabric softeners, toxicity, microorganisms.

Introducción

Los suavizantes son productos auxiliares para el lavado de telas, los cuales son aplicados en el último enjuague con el fin de perfumar y dar un tacto suave a los textiles. Estos productos se comercializan en todo el mundo; en el caso de México se han identificado diferentes marcas de suavizantes de telas, producidas por compañías como Colgate-Palmolive, Procter & Gamble, Unilever, Industrias Alen y Henkel (MKT-UP, 2006).

Para cumplir con la función para la cual fueron diseñados, los suavizantes contienen *alquiltrimetilamonio* (tensoactivo catiónico) y 7 entre otros

compuestos como espesantes, colorantes y perfume (Tsai y Ding, 2004; Oblak y Gamian, 2010; Kemper *et al.*, 2010). El efecto de los suavizantes de telas sobre algunos organismos está documentado desde 1980 (Weaver y Herrmann, 1981). Los componentes individuales de los suavizantes de telas pueden desarrollar efectos de toxicidad, un ejemplo de esto es el dimetoxano, ya que se ha reportado que 2,000 mg/kg de este compuesto puede ocasionar la muerte de ratas y ratones de experimentación (National Toxicology Program, 1989). En el caso de organismos acuáticos, se ha reportado que los suavizantes de telas son muy tóxicos para los microcrustáceos y en el caso de bacterias y fitoplancton, estos organismos experimentan una inhibición en su

actividad metabólica cuando están presentes sales de amonio (Tubbing y Admiraal, 1991).

Con relación al efecto tóxico de los suavizantes sobre seres humanos, se ha demostrado que el producto terminado puede causar irritación de las fosas nasales, de los pulmones y limitación en el paso de aire hacia estos últimos (Anderson y Anderson, 2000; Ketter *et al.*, 2005; Robinson *et al.*, 2005). Caress y Steinemann (2009) reportaron que el 10.9% de pacientes de una muestra de 2115 personas describieron haber sufrido irritación de las vías respiratorias superiores por inhalar suavizantes de telas, este porcentaje aumenta cuando la persona padece de asma o sensibilidad química.

Con relación al efecto de los suavizantes de telas sobre el suelo, se ha determinado que las bacterias que son afectadas de manera crónica con agua contaminada con sales cuaternarias de amonio, expresan una resistencia inusual a la acción inhibitoria de estas sustancias (Gaze *et al.*, 2005), sin embargo este efecto sólo se manifiesta en poblaciones bacterianas y no se conoce el resultado sobre las poblaciones de hongos que también habitan el suelo.

Al igual que otros compuestos de gran uso aplicados en funciones de limpieza, es importante identificar el efecto ocasionado por los suavizantes de telas sobre los organismos y el ambiente, ya que se ha demostrado su potencial tóxico. En el caso de México, la información sobre los efectos que ocasionan los suavizantes de telas comercializados en el país sobre diferentes organismos es escasa, por tanto resulta importante evaluar el efecto de estos compuestos sobre las poblaciones microbianas que habitan en suelo, ya que en el país es una práctica común utilizar agua residual sin tratar para riego, la cual contiene una alta concentración de productos de limpieza (Pineda-Flores y Gutiérrez-Castrejón, 2000) y puede ocasionar la inhibición de la actividad de las poblaciones de microorganismos que contribuyen a aumentar la fertilidad del suelo.

Objetivo

Determinar el efecto causado por cuatro suavizantes de tela producidos en México, sobre el crecimiento de microorganismos del suelo y su capacidad de producción de CO₂, para establecer su potencial tóxico sobre estas poblaciones.

Método

a) Obtención de la muestra de suelo

Se recolectó una muestra de 2kg de suelo de una localidad del Estado de México en el municipio de Cuautitlán el cual no ha tenido influencia por descargas de agua residual contaminadas con suavizantes de telas. Se eliminó la vegetación superficial de un área de aproximadamente 30 cm² y con una pala se recolectó la muestra, colocándola en una bolsa de polietileno negra. Se transportó hasta el laboratorio y se refrigeró a 4°C hasta su análisis.

b) Análisis fisicoquímico del suelo

Se evaluó por triplicado la textura, pH, porcentaje de humedad y porcentaje de materia orgánica.

La textura de la muestra de suelo se determinó siguiendo el procedimiento descrito en la norma NOM-021-RECNAT-2000, el cual se basa en el método de la pipeta.

Para determinar el pH se pesaron 5g de suelo secado previamente a 80°C durante 24 horas y se colocaron dentro de un vaso de precipitados de 50ml. Se añadieron 5ml de una solución de CaCl₂ 0.01M con agitación. Después de que se sedimentó la suspensión se registró el valor de pH introduciendo el electrodo de un potenciómetro calibrado con regulador de pH 4, 7 y 12.

Se determinó el porcentaje de humedad del suelo pesando 10g de suelo húmedo y se colocaron en una cápsula de porcelana. Se introdujo en un horno eléctrico y se mantuvo a 105°C durante 24 horas hasta que se mantuvo constante el peso.

Para calcular el porcentaje de humedad se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = [(PS_h - PS_s)/PS_h] \times 100$$

En donde:

PS_h: peso en gramos del suelo húmedo.

PS_s: peso en gramos del suelo después de secarlo durante 24 horas a 105°C.

La materia orgánica se determinó por el método de Walkley y Black utilizando un matraz Erlenme-

yer de 500ml al cual se le añadió 1g de suelo. Se agregaron 10 ml de $K_2Cr_2O_7$ 1N más 20ml de H_2SO_4 concentrado con agitación constante y evitando que el suelo se quedara adherido a las paredes del matraz. Posteriormente se dejó reposar la mezcla formada por 30 minutos y se añadieron 200ml de agua destilada, 10ml de H_3PO_4 al 85% más 3 gotas de indicador de difenilamina. Se tituló el contenido del matraz con $FeSO_4$ 1N hasta que se obtuvo un color verde brillante. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de materia orgánica:

% materia orgánica = % Carbono orgánico x 1.724

Para calcular el porcentaje de carbono orgánico se aplicó la siguiente fórmula:

% Carbono orgánico = (B-T/g) N 0.39 mcf

En donde:

B: Volumen de $FeSO_4$ gastado para valorar el blanco de reactivos.

T: Volumen de $FeSO_4$ gastado para valorar la muestra.

N: Normalidad exacta del $FeSO_4$

g: peso de la muestra empleada.

mcf: factor de corrección de la humedad.

c) Efecto sobre el crecimiento de poblaciones microbianas de suelo por el contacto con suavizantes de telas

Se evaluó el número de bacterias mesófilas aerobias (BMA) y hongos filamentosos que habitan en la muestra de suelo recolectado y que no ha recibido la influencia de suavizantes de telas.

Se utilizaron frascos de polietileno de 0.5L de capacidad, los cuales contenían 30g de suelo más la cantidad de suavizante de telas suficiente para alcanzar una concentración en suelo de 0.1%. Se incluyó un sistema testigo el cual contenía 30g de suelo sin la adición de suavizante alguno.

Los frascos se mantuvieron a temperatura ambiente durante tres semanas y el efecto de cada suavizante se evaluó por duplicado.

Los suavizantes de telas evaluados que se comercializan en México y son producidos por diferentes compañías, fueron identificados con las claves ST-1, ST-2, ST-3 y ST-4.

Para determinar el crecimiento de los microorganismos se utilizaron las técnicas de diluciones con agua destilada estéril y dispersión con varilla de vidrio acodada estéril. Para determinar el número de BMA se emplearon cajas Petri desechables estériles con medio de cultivo agar cuenta estándar y para los hongos filamentosos agar rosa de bengala.

Para el conteo de BMA se sembraron las diluciones -4 a la -6 y para hongos filamentosos las diluciones -2 a la -4.

Las cajas con agar cuenta estándar se incubaron a 37°C durante 48 horas y las que contenían agar rosa de bengala se incubaron a 28°C durante 5 días. Después de transcurrir el tiempo de incubación se contaron las colonias presentes en ambos medios.

Los muestreos se realizaron por triplicado al tiempo inicial y posteriormente cada 48 horas durante tres semanas.

d) Efecto sobre la producción de CO₂ de microorganismos de suelo por el suavizante de telas que produjo la mayor inhibición de su crecimiento

Se utilizaron tres sistemas de frascos de polietileno de 0.5 L de capacidad, los cuales contenían dos recipientes de vidrio de 50 ml cada uno.

En el primer sistema se colocó 30 g de suelo más la cantidad de suavizante de telas suficiente para alcanzar una concentración de 0.1% en el suelo. El suavizante de telas aplicado en esta etapa fue el que produjo la mayor inhibición del crecimiento de los microorganismos del suelo. En uno de los recipientes de vidrio se colocó 10 ml de KOH 0.1M y en el segundo se adicionó 10 ml de agua desionizada.

El segundo sistema contenía lo que se describió anteriormente pero sin la adición del suavizante de telas (sistema testigo) y el tercer sistema no contenía ni suelo ni suavizante (sistema blanco).

Los frascos se mantuvieron a temperatura ambiente durante 10 días y se evaluó la producción de CO₂ diariamente, utilizando el método de Winkler descrito en Pineda-Flores *et al.* (2004).

Resultados

En la tabla 1 se muestran los resultados del análisis fisicoquímico del suelo.

Tabla 1. Análisis fisicoquímico del suelo libre de contaminación por suavizantes de telas

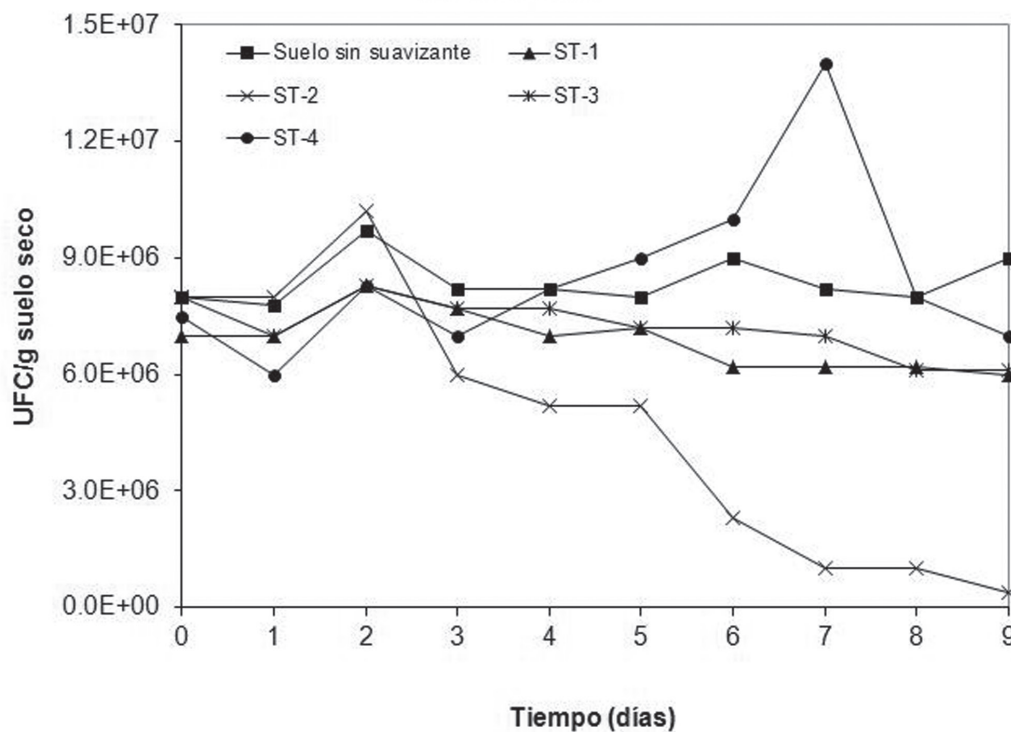
Variable	Magnitud
Textura	Suelo franco arcilloso-franco limoso*
pH	7.21
Humedad (%)	33.48
Materia orgánica (%)	5.22

*Determinado a partir del porcentaje de arena, arcilla y limo: 20.75475%, 48.056% y 73.23825% respectivamente.

De acuerdo a la tabla 1, el suelo muestreado presenta características de suelo para cultivo, como son su textura, pH con tendencia a la neutralidad, alto porcentaje de humedad y nivel de materia orgánica considerado como alto (ligemente por arriba del 5%).

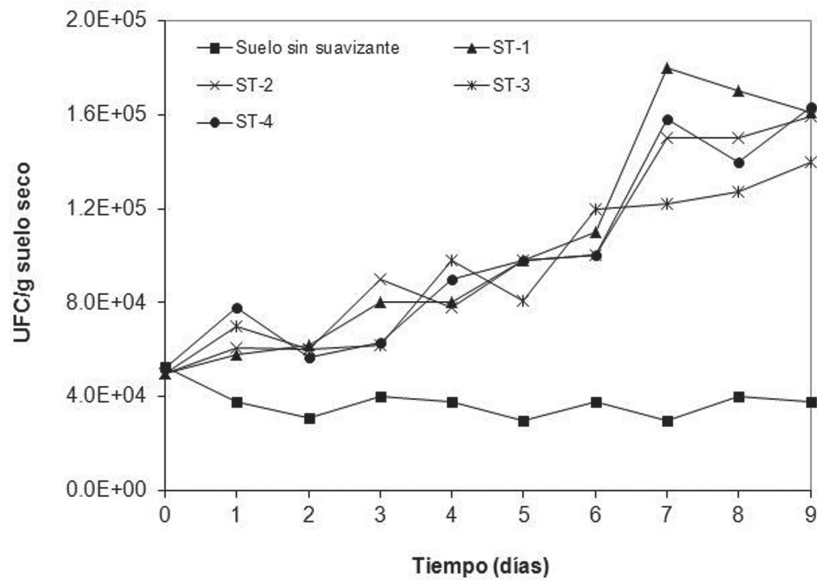
En la figura 1 se muestran los resultados obtenidos al evaluar el efecto de los suavizantes de telas sobre el crecimiento de BMA del suelo. Al comparar el crecimiento de las bacterias presentes en el sistema testigo (suelo sin suavizante) con el mostrado por las bacterias en presencia de los suavizantes de telas, se observa que aquellos identificados como ST-1, ST-3 y ST-4 no produjeron una reducción en las UFC/g de suelo seco de estos microorganismos. Por el contrario, el suavizante de telas identificado como ST-2 sí mostró una reducción muy marcada en el número de UFC/g de suelo seco de las BMA alcanzando su número más bajo al noveno día de la prueba.

Figura 1. Efecto sobre el crecimiento de bacterias mesofílicas aerobias de suelo por el contacto con diferentes suavizantes de telas



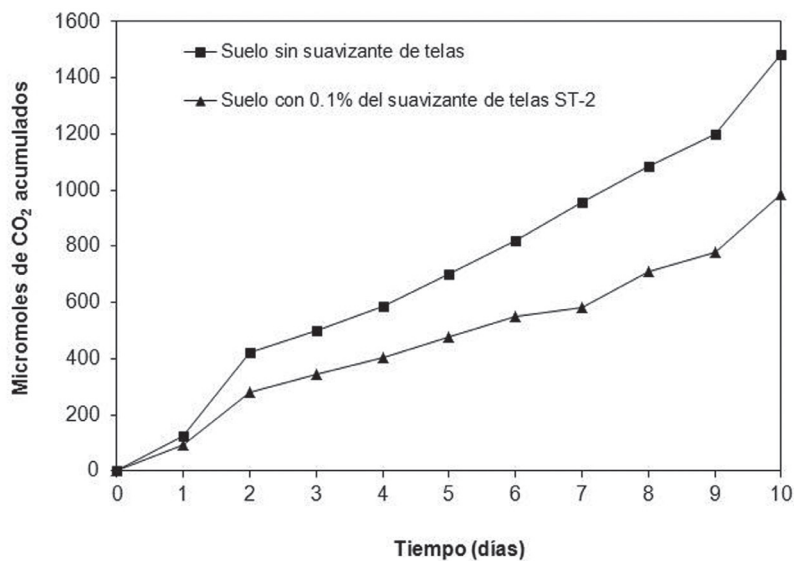
En la figura 2 se presentan los resultados obtenidos al evaluar el efecto de los diferentes suavizantes de telas sobre el crecimiento de hongos filamentosos del suelo. La tendencia de estos resultados es diferente a la mostrada en la figura 1: en lugar de observar una inhibición en el crecimiento de los hongos filamentosos de suelo, se muestra un incremento gradual de las UFC/g de suelo seco conforme se desarrolló esta prueba. Este efecto se observó en los cuatro suavizantes de telas bajo estudio y el incremento de estos microorganismos fue en promedio de 1.18×10^5 UFC/g suelo seco.

Figura 2. Efecto sobre el crecimiento de hongos filamentosos de suelo por el contacto con diferentes suavizantes de telas



En la figura 3 se muestran los resultados de la producción de CO_2 por los microorganismos de suelo al estar en contacto con el suavizante ST-2. Se observa que la producción de CO_2 de los microorganismos de suelo en contacto con el suavizante ST-2 aumenta de forma gradual, sin embargo, al comparar esta producción con la obtenida por los microorganismos de suelo sin la adición de suavizante alguno, se observa que ésta es menor. Los microorganismos del sistema libre de suavizantes produjeron en promedio 268.66 micromoles de CO_2 más que los microorganismos presentes en el suelo con suavizante de telas ST-2.

Figura 3. Efecto del suavizante de telas ST-2 sobre la producción de dióxido de carbono de los microorganismos de suelo



Discusión

Los suavizantes de telas son productos que se producen y comercializan en todo el mundo; en México es posible encontrar productos de este tipo que no fueron producidos en el país. En el caso del presente trabajo, los suavizantes de telas empleados fueron seleccionados por su presencia en el mercado mexicano (10 años como mínimo), por sus altas ventas y por ser de fabricación nacional (MKT-UP, 2006).

De acuerdo con los resultados de la tabla 1, el suelo utilizado reúne las propiedades para permitir el desarrollo de los microorganismos presentes, ya que contiene materia orgánica, humedad y pH cercano a la neutralidad. Es importante establecer que el suelo empleado para evaluar el efecto de los suavizantes no tenía deficiencias para permitir el desarrollo de los microorganismos, ya que de ser así no sería posible diferenciar un efecto de inhibición sobre actividades fisiológicas de los microorganismos, causado por ausencia de nutrimentos o por el efecto del suavizante.


Los suavizantes evaluados producen efectos diferentes sobre las BMA y los hongos filamentosos presentes en el suelo. En el caso de las bacterias (figura 1) se observa que el suavizante ST-2 reduce el número de estos microorganismos y de acuerdo a la figura 2, los cuatro suavizantes empleados producen un aumento en el número de hongos filamentosos presentes en el suelo. Para explicar este fenómeno se debe considerar la vía de entrada de los suavizantes de telas al suelo, su carga eléctrica y su potencial tóxico. La vía de entrada es a través de la descarga de agua residual sin tratar que contenga estos compuestos, en el caso de este trabajo fueron adicionados al suelo disueltos en agua destilada. Una vez que el suavizante se encuentra en el suelo, es fuertemente adsorbido por las arcillas del suelo (48.056%), debido a que poseen carga eléctrica negativa y es opuesta a la que presentan los componentes de los suavizantes (Sutterlin *et al.*, 2008).

Los componentes adsorbidos pueden polimerizarse en estas condiciones, formando aminas cuaternarias benciladas y poliméricas, las cuales se ha demostrado son potentes precursores de nitrosaminas tóxicas (Kemper *et al.*, 2010). Las nitrosaminas formadas pueden ocasionar la inhibición del crecimiento de las BMA presentes en el suelo. En el caso del suavizante ST-2 es posible que los componentes capaces

de adherirse, polimerizarse y expresar su potencial tóxico sean muy abundantes en el producto comercial. El efecto tóxico causado por los componentes del suavizante ST-2 también puede inhibir la actividad de respiración de los microorganismos del suelo, ya que a una concentración de 0.1%, la producción de CO₂ disminuye en 268.8 micromoles de CO₂ y este comportamiento se presentó durante 10 días.

Por otra parte, Oblak y Gamian (2010) reportaron que algunos microorganismos presentan proteínas identificadas como QacA y QacB que confieren resistencia a sales cuaternarias de amonio, que son componentes de los suavizantes de telas. Es posible que los hongos filamentosos del suelo posean proteínas capaces de inhibir el efecto tóxico de los componentes de los suavizantes, lo que les permite crecer de manera abundante aun en presencia de estos compuestos.

Conclusión

Los suavizantes de telas son compuestos que pueden ocasionar la inhibición del crecimiento y la producción de CO₂ de microorganismos de suelo. Es necesario identificar aquellos componentes de los suavizantes que están en alta concentración y que tienen el mayor potencial tóxico, para reducir su concentración en el producto terminado y evitar que alteren estos procesos fisiológicos microbianos, cuando el suavizante es descargado en el ambiente después de su uso. 

Referencias

- Anderson, R. y Anderson, J. (2000). "Respiratory toxicity of fabric softener emissions", En *J. Toxicol. Environ. Health A*. 26; 60(2). 121-136.
- Caress, S. y Steinemann, A. (2009). "Prevalence of fragrance sensitivity in the American population". En *J. Environ. Health*. 71(9). 51-52.
- Gaze, W., Abdousslam, N., Hawkey, P. y Wellington, M. (2005). *Incidence of class 1 integrons in a quaternary ammonium compound-polluted environment, Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 5(49). 1802-1807.
- Ketter, T., Wang, P., Chandler, R., Alarcón, A., Bécker, O., Nowakowska, C., O'Keefe, C. y Schumacher, M. (2005). "Dermatology precautions and slower titration yield low incidence of lamotrigine treatment-emergent rash". En *J. Clin. Psychiatry*. 66(5). 642-645.

- Kemper, J., Walse, S. y Mitch, W. (2010). "Quaternary amines as nitrosamine precursors: a role for consumer products?" En *Environ. Sci. Technol.* 44(4). 1224-1231.
- MKT-UP, (2006). Noticias de anaquel. Consultada el 31 de mayo de 2006 en www.marketing-up.com.mx
- National Toxicology Program, (1989). "NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Dimethoxane (Commercial Grade) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies)". En *Natl.Toxicol. Program Tech. Rep. Ser.* 354. 1-191.
- NOM-021-RECNAT. (2000). *Norma que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis.*
- Oblak, E. y Gamian, A. (2010). "The biological activity of quaternary ammonium salts (QASs)". En *Stepy Hig. Med. Dosw.* 64. 201-211.
- Pineda-Flores G. y Gutiérrez-Castrejón, T. (2000). "Biodegradación de detergentes aniónicos de uso doméstico por diferentes consorcios microbianos". En *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.* 46(1). 65-75.
- Pineda-Flores G., Boll-Argüello, G., Lira-Galeana, C. y Mesta-Howard A. (2004). "A microbial consortium isolated from a crude oil sample that uses asphaltene as a carbon and energy source". En *BIODEGRADATION.* 15(3). 145-151
- Robinson, M., Kruszewski, F., Al-Atrash, J., Blazka, M., Gingell, R., Heitfeld, F., Mallon D., Snyder, N., Swanson, J. y Casterton, P. (2005). "Comparative assessment of the acute skin irritation potential of detergent formulations using a novel human 4-h patch test method". En *Food Chem. Toxicol.* 43(12). 1703-1712.
- Sutterlin, H., Alexy, R., Coker, A. y Kummerer K. (2008). "Mixtures of quaternary ammonium compounds and anionic organic compounds in the aquatic environment: elimination and biodegradability in the closed bottle test monitored by LC-MS/MS". En *Chemosphere.* 72. 479-484.
- Tsai, P. y Ding, W. (2004). "Determination of alkyltrimethylammonium surfactants in hair conditioners and fabric softeners by gas chromatography-mass spectrometry with electron-impact and chemical ionization". En *J. Chromatogr. A.* 1027(1-2). 103-108.
- Tubbing, D. y Admiraal, W. (1991). "Inhibition of bacterial and phytoplanktonic metabolic activity in the coger river Rhine by ditallowdimethylammonium chloride, Appl". En *Environ. Microbiol.* 12(57). 3616-3622.
- Weaver, J. y Herrmann, K. (1981). "Evaluation of adverse reaction reports for a newly laundry product". En *J. Am. Acad. Dermatol.* 4(5). 577-583.